

29【P2】Ⅲ-398

黄色ブドウ球菌フラボキナーゼ RibC の温度感受性変異株と精製タンパク質の性状解析

○西田 智¹, 黒川 健児¹, 松尾 美記¹, 三田 智文¹, 小嶋 悟史², 福原 法夫², 村上 和久², 関水 和久¹ (¹東大院薬, ²塩野義製薬創薬研)

【目的】我々は黄色ブドウ球菌の増殖に必須な遺伝子の同定を温度感受性変異株を分離しその相補遺伝子を決定することにより進めている。その中に *ribC* 遺伝子によって温度感受性が相補される変異株を得た。*ribC* 遺伝子産物は、リボフラビンと 2 分子の ATP から FMN を経て FAD を合成する二段階の反応を触媒するとされる。本研究では黄色ブドウ球菌における RibC の役割の解明を目的として、変異株の解析と RibC 蛋白の精製を行った。

【結果】黄色ブドウ球菌 RN4220 株の EMS 処理により得た高温感受性変異株から *ribC* 遺伝子より温度感受性が相補される株を得た。この変異株は染色体上の *ribC* 遺伝子に 1 アミノ酸置換を引き起こす変異を有していた。この変異株の高温感受性は FMN、あるいは FAD の添加により相補された。次に黄色ブドウ球菌 RibC 蛋白の生化学的解析を目的とし、*ribC* 遺伝子が大腸菌株内で多量発現させた。その結果、RibC 蛋白と一致する 37 kDa の蛋白質が全細胞の約 8% にまで発現した。この蛋白は細胞の可溶性画分に回収され、硫酸沈殿、陰イオン交換クロマトグラフィーにより純度約 80% にまで精製された。この精製画分はリボフラビンのリン酸化による FMN の合成活性を示し、その比活性は報告された枯草菌 RibC タンパクのそれと同程度であった。

【考察】黄色ブドウ球菌 *ribC* 遺伝子産物がフラボキナーゼであり、*ribC* 遺伝子産物による FMN の合成が黄色ブドウ球菌の増殖において必須であることが示唆された。